

# (19)대한민국특허청(KR) (12) 등록특허공보(B1)

(51) . Int. Cl.	(45) 공고일자	2006년05월15일
C07D 405/12 (2006.01)	(11) 등록번호	10-0580743
	(24) 등록일자	2006년05월09일

(21) 출원번호	10-2003-0069803	(65) 공개번호	10-2005-0034024
(22) 출원일자	2003년10월08일	(43) 공개일자	2005년04월14일

(73) 특허권자      한미약품 주식회사  
                         경기 화성시 팔탄면 하저리 893-5

(72) 발명자      차미영  
                         경기도성남시분당구금곡동청솔마울한라아파트306동1102호

                         방극찬  
                         인천광역시남동구만수2동만수주공아파트1104동1203호

                         안영길  
                         경기도성남시분당구정자동상록마울라이프아파트203동1205호

                         김맹섭  
                         서울특별시강동구둔촌동주공아파트301동203호

                         이관순  
                         서울특별시송파구오금동우창아파트3동404호

(74) 대리인      장성구  
                         이현실

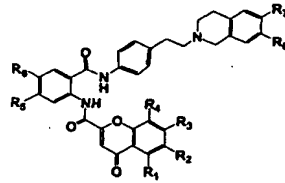
심사관 : 박형달

(54) 다약제 내성 저해 활성을 갖는 신규한 크로몬 유도체 또는이의 약제학적으로 허용가능한 염 및 이들의 제조 방법

## 요약

본 발명은 하기 화학식 1의 신규한 크로몬 유도체, 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 크로몬 유도체는 암세포의 다약제 내성에 대한 저해제로서 유용하다.

화학식 1



상기 식에서, R<sub>1</sub> 내지 R<sub>8</sub>은 각각 독립적으로 수소, 히드록시, 할로젠, 니트로, C<sub>1-5</sub> 알킬 또는 C<sub>1-5</sub> 알콕시이다.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 암세포의 다약제 내성에 대한 저해 활성을 갖는 신규한 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

암은 전 세계적으로 성인사망의 중요한 원인의 하나가 되는 치명적인 질병으로, 그 발생 빈도가 점차 증가하는 추세에 있다. 현재 암의 치료를 위하여 다양한 약물들이 항암제로 사용되고 있으나, 항암제 치료에 있어 가장 심각한 문제점은 이들 약물에 대한 암세포의 내성 발현이다. 암세포의 내성 발현의 주요한 원인은 표적세포로부터 항암제를 방출시키는 에너지 의존성 배출펌프의 과다발현에 기인하는 것으로 잘 알려져 있으며, 이들 중 p-당단백질의 과발현에 의한 다약제 내성(multi-drug resistance, MDR)이 가장 문제가 되고 있다.

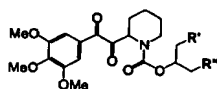
암세포의 다약제 내성은 일반적으로 항암제의 사용에 따라 증가하며 임상적으로 p-당단백질이 과발현된 암 환자는 그렇지 않은 암 환자에 비해 암치료율이 현저히 떨어지는 결과를 보이고 있다. 임상적으로 사용되고 있는 많은 항암제들이(예를 들면, 빈카알칼로이드, 안트라사이클린, 에피도도필로톡신 및 파클리탁셀 등) p-당단백질에 영향을 받으며, 과발현된 배출펌프에 의하여 세포 외로 약물이 배출됨으로써 항암효능을 발휘하지 못하는 것으로 알려져 있다 [참조: D. W. Shen, et al., Science 232, 643-645, 1986].

p-당단백질은 또한 장의 내피세포 등에 존재하며 특정 약물의 경구흡수를 방해하는 것으로 알려져 있다. 항암제의 주요 약물인 파클리탁셀, 도세탁셀 등은 경구로 투여되었을 때, p-당단백질의 작용에 의해 거의 흡수가 이루어지지 않으며, 약효를 발휘하지 못한다 [참조: Schinkel, et al., Cell 77, 491-502, 1994].

따라서, p-당단백질을 저해하는 화합물을 이들 항암제와 함께 투여하는 경우 다약제 내성을 갖는 암세포내에 약물을 축적시킴으로써 악성종양의 치료를 더욱 용이하게 할 수 있으며, 항암제의 경구흡수율을 향상시킴으로써 약물의 경구투여가 가능하여 안전성과 편리성을 도모할 수 있다.

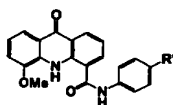
암세포의 p-당단백질에 의한 약물의 배출시스템을 저해시키는 화합물을 이용하여 항암제의 효능을 개선하기 위한 많은 노력들이 있었다. 예를 들면, 칼슘채널차단제인 베라파밀(verapamil)과 면역억제제인 사이클로스포린 A(cyclosporin A)는 암세포의 다약제 내성을 반전시키는 작용을 하는 것으로 보고되었다. 그러나, 베라파밀 및 사이클로스포린 A와 같은 p-당단백질 저해제는 자체가 강력한 약리작용을 지니고 있어 임상적으로 사용되어졌을 때 혈압강하나 면역억제와 같은 심각한 부작용을 나타내는 단점이 있다 [참조: Cancer Res., 41, 1967-1972, 1981].

국제 특허 공개 제 WO 94/07858호(Vertex)에는 다약제 내성 저해제로서 유용한 하기 구조식의 피페리딘-2-카르복실산 유도체가 개시되어 있다:



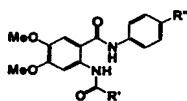
상기 특허 출원에 개시된 활성 화합물 중 하나인 VX-710은 기존의 p-당단백질 저해제에 비하여 활성이 크게 증가하였으며,  $\mu\text{M}$  농도에서 암세포의 다약제 내성을 역전시키는 것으로 보고된 바 있다. 그러나, VX-710 화합물은 사이토크롬 (cytochrome) P450 효소를 저해하는 것으로 알려져 있으며, 항암제와 함께 임상적으로 사용되었을 때 약물상호작용에 의한 항암제의 혈중 농도를 증가시키고, 독성을 유발하는 문제점이 있다.

국제 특허 공개 제 WO 92/12132호(Glaxo)에는 다약제 내성 저해제로서 효율적인 하기 구조식의 아크리딘 유도체가 개시되어 있다:



상기 특허 출원에 개시된 활성 화합물 중 하나인 GF-120918 화합물은 p-당단백질을 강력하게 저해하며 내성암에 대하여 항암 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 그러나, GF-120918 화합물은 배출펌프의 활성을 저해함에 있어 선택성이 낮은 단점이 있다.

국제 특허 공개 제 WO 98/17648호(Xenova)에는 다약제 내성을 역전시키는데 효과적인 하기 구조식의 안트라닐산 유도체가 개시되어 있다:



상기 특허 출원에 개시된 활성 화합물 중 하나인 XR-9576 화합물은 다양한 항암제의 세포내 축적을 증가시키고, 내성암에 대하여 항암제의 효력을 증강시키는 것으로 알려져 있다. 그러나, XR-9576 화합물은 다약제 내성을 억제하기 위하여 임상적으로 사용되었을 때, 바람직하지 못한 부작용을 유발하는 문제점이 있다.

따라서, 부작용을 최소화 하면서 암세포의 다약제 내성을 효율적으로 극복하기 위한 약물의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다.

이에 본 발명자들은 부작용을 유발하지 않으면서 효과적으로 p-당단백질을 억제하는 화합물을 개발하고자 예의 연구한 결과, 항산화작용을 갖는 크로몬 유도체가 약물의 경구흡수율을 증가시키면서 p-당단백질 저해제로서 작용함을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

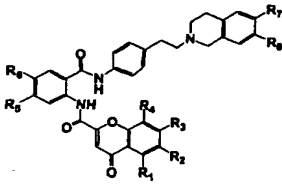
#### 발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명의 목적은 암세포의 다약제 내성에 대한 저해 활성을 갖고 약물의 경구흡수율을 향상시키는 신규한 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

#### 발명의 구성 및 작용

상기 목적에 따라, 본 발명에서는 하기 화학식 1의 신규한 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

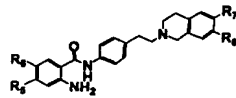
#### 화학식 1



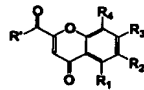
상기 식에서, R<sub>1</sub> 내지 R<sub>8</sub>은 각각 독립적으로 수소, 히드록시, 할로젠, 니트로, C<sub>1-5</sub> 알킬 또는 C<sub>1-5</sub> 알콕시이다.

상기의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 하기 화학식 2의 아미노페닐 화합물과 하기 화학식 3의 산 또는 아실할라이드 화합물을 축합제 또는 염기의 존재하에서 반응시키는 단계를 포함하는 상기 화학식 1의 신규한 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 제조방법을 제공한다:

화학식 2



화학식 3



상기 식에서, R<sub>1</sub> 내지 R<sub>8</sub>은 각각 독립적으로 수소, 히드록시, 할로젠, 니트로, C<sub>1-5</sub> 알킬 또는 C<sub>1-5</sub> 알콕시이며, R'는 OH, Cl 또는 Br 이다.

또한, 본 발명에서는 활성 성분으로서 상기 화학식 1의 신규한 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 p-당단백질 저해용 약학적 조성물을 제공한다.

이하 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

본 발명에 따른 신규한 크로몬 유도체의 바람직한 구체적인 예는 다음과 같다:

4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드;

6-메틸-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드;

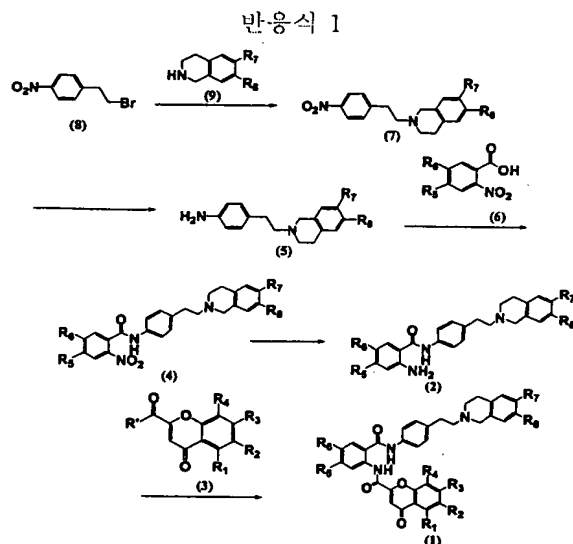
5-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드;

5-히드록시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드;

6-플루오로-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드; 및

6-브로모-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드.

본 발명에 따라서, 상기 화학식 1의 신규한 크로몬 유도체는 하기 반응식 1과 같이 도식화된 방법에 따라 제조될 수 있다.



상기 식에서, R<sub>1</sub> 내지 R<sub>8</sub>은 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같으며, R'는 OH, Cl 또는 Br 이다.

상기 화학식 1의 크로몬 유도체의 제조방법을 상세히 설명하면 다음과 같다.

상기 화학식 1의 크로몬 유도체는 상기 반응식 1에 나타난 바와 같이 화학식 2의 아미노페닐 화합물과 화학식 3의 카르복실산 또는 아실할라이드 화합물을 축합제 또는 염기의 존재하에서 반응시켜 제조할 수 있다. 반응에 사용되는 화학식 3의 화합물은 화학식 2의 화합물에 대하여 1 내지 2 당량을 사용하는 것이 바람직하며, 반응온도는 0 내지 50℃ 이다.

상기 반응에서 사용되는 축합제로는 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드, *N,N*-디시클로헥실디이미드, *N,N*-디이소프로필카르보디이미드, 1-시클로헥실-3-(2-몰포리노에틸)카르보디이미드 메틸-*p*-톨루엔설포네이트 등이 사용될 수 있으며, 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드가 가장 바람직하다. 축합제의 사용량은 화학식 2의 화합물에 대하여 1 내지 5 당량이고, 바람직하게는 1 내지 2 당량이다.

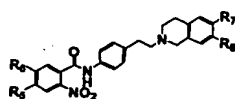
상기 반응에서 축합제를 사용하는 경우, 4-(디메틸아미노)피리딘을 촉매로서 사용할 수 있으며, 그 사용량은 화학식 2의 화합물에 대하여 0.05 내지 0.3 당량이 바람직하다.

상기 반응에서 사용되는 염기로는 트리에틸아민, 디프로필에틸아민, 피리딘 등이 사용될 수 있고 염기의 사용량은 화학식 2의 화합물에 대하여 1 내지 2 당량이다. 상기 반응에서 반응 용매로는 디클로로메탄, 클로로포름, *N,N*-디메틸포름아미드, 테트라히드로퓨란, 1,4-디옥산 등이 사용될 수 있고, 디클로로메탄, 클로로포름이 바람직하다.

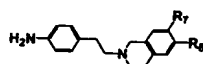
상기 반응은 -20 내지 100℃, 바람직하게는 0 내지 50℃에서 수행된다.

본 발명에 따른 화학식 1의 신규한 크로몬 유도체를 제조하는데 사용되는 화학식 2의 화합물은, 상기 반응식 1에 도시된 바와 같이 하기 화학식 8의 니트로 화합물과 화학식 9의 아민 화합물을 염기 존재하에서 반응시켜 하기 화학식 7의 니트로 화합물을 생성한 후, 이를 금속 촉매하에서 수소화반응시켜 하기 화학식 5의 아민 화합물을 생성한 다음, 하기 화학식 6의 카르복실산 화합물을 염화 티오닐과 반응시킨 후 염기의 존재하에서 화학식 5의 아민 화합물과 반응시켜 하기 화학식 4의 니트로페닐 화합물을 수득한 후, 이를 다시 금속 촉매하에서 수소화반응을 수행함으로써 제조할 수 있다:

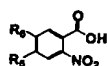
화학식 4



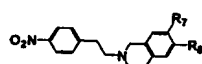
화학식 5



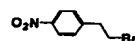
화학식 6



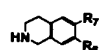
화학식 7



화학식 8



화학식 9



상기 화학식 7의 니트로 화합물을 수득하는 반응에서, 화학식 9의 화합물은 화학식 8의 화합물에 대하여 1 내지 2 당량 사용하는 것이 바람직하며, 염기로는 피리딘, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, 디메틸포름아미드 등이 사용될 수 있고, 염기의 사용량은 화학식 8의 화합물에 대하여 1 내지 2 당량이 바람직하다. 반응 용매로는 물, 메탄올, 에탄올, 클로로포름, 디클로로메탄, 테트라히드로퓨란, 에틸에테르, 헥산, 톨루엔 등이 사용될 수 있으며, 반응온도는 0 내지 120℃이다.

상기 화학식 5의 아민 화합물을 수득하기 위한, 상기 화학식 7의 니트로 화합물의 수소화 반응에 사용되는 금속 촉매로는 팔라듐, 플래티늄, 아연, 철 등이 사용될 수 있고, 용매로는 메탄올, 에탄올, 클로로포름, 디클로로메탄, 테트라히드로퓨란, 에틸에테르, 헥산, 톨루엔이 사용될 수 있으며, 반응온도는 0 내지 50℃이다.

상기 화학식 4의 니트로페닐 화합물을 수득하는 반응에서는, 화학식 5의 화합물이 화학식 6의 화합물에 대하여 1 내지 1.5 당량 사용되는 것이 바람직하며, 염기로는 피리딘, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민 등이 사용될 수 있고, 염기의 사용량은 화학식 6에 대하여 1 내지 3 당량이 바람직하다. 반응 용매로는 물, 메탄올, 에탄올, 클로로포름, 디클로로메탄, 테트라히드로퓨란, 에틸에테르, 헥산, 톨루엔이 사용될 수 있으며, 반응온도는 0 내지 50℃이다.

상기 화학식 2의 아미노페닐 화합물을 수득하기 위한, 상기 화학식 4의 니트로페닐 화합물의 수소화 반응에 사용되는 금속 촉매로는 팔라듐, 플래티늄, 아연, 철 등이 사용될 수 있고, 용매로는 메탄올, 에탄올, 클로로포름, 디클로로메탄, 테트라히드로퓨란, 에틸에테르, 헥산, 톨루엔 등이 사용될 수 있으며, 반응온도는 0 내지 50℃이다.

본 발명에 따른 화학식 1의 크로몬 유도체는 무기 또는 유기산으로부터 유도된 약학적으로 허용가능한 염 형태로 사용될 수 있으며, 바람직한 염으로는 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 질산, 아세트산, 글리콜산, 락트산, 피루빅산, 말론산, 숙신산, 글루타르산, 푸마르산, 말산, 만델산, 타르타르산, 시트르산, 아스코르빈산, 팔미트산, 말레인산, 히드록시말레인산, 벤조산, 히드록시벤조산, 페닐아세트산, 신남산, 살리실산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, 톨루엔설폰산 등의 염을 들 수 있다.

본 발명에 따른 크로몬 유도체 또는 이의 염은 p-당단백질에 의한 다약제 내성을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 화합물 또는 이의 염은 암세포로부터 항암제의 유출을 강력하게 억제하여 내성암에 대한 항암제의 효능을 증가시키는 데 유용하다. 따라서, 본 발명에 따른 크로몬 유도체 및 이의 염은 항암제에 내성을 가진 환자에게 항암제와 함께 투여함으로써 내성암을 치료할 수 있다.

본 발명에 따른 크로몬 유도체 또는 이의 염은 또한 경구투여시 생체흡수율이 낮은 항암제의 생체흡수율을 향상시킬 수 있다.

본 발명에 따른 크로몬 유도체 및 이의 염과 배합하여 사용하기에 적합한 항암제는 특별하게 제한되지 않으며; 바람직하게는 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel)과 같은 타산계, 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 빈노렐빈(vinorelbine)과 같은 빈카알카로이드계, 다우노마이신(daunomycin), 독소루비신(doxorubicin)과 같은 안트라사이클린계, 토포테칸(topotecan), 이리노테칸(irinotecan)과 같은 캄토테신계, 악티노마이신(actinomycin), 에토포시드(etoposide) 등의 항암제가 사용될 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 통상적인 방법에 따라 제제화할 수 있으며, 정제, 환제, 산제, 캡셀제, 시럽, 에멀전, 마이크로에멀전 등의 다양한 경구 투여 형태 또는 근육내, 정맥내 또는 피하투여와 같은 비경구 투여 형태로 제조될 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 화합물 또는 이의 염, 임의의 가능한 담체 또는 부형제를 포함할 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물이 경구제형의 형태로 제조되는 경우, 사용되는 담체 또는 부형제의 예로는 셀룰로오스, 규산칼슘, 옥수수전분, 락토오스, 수크로스, 덱스트로스, 인산칼슘 및 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산칼슘, 젤라틴, 탈크, 계면활성제, 현탁제, 유화제, 희석제 등을 들 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물이 주사제의 형태로 제조되는 경우 사용되는 담체로는 물, 식염수, 포도당 수용액, 유사당수용액, 알코올, 글리콜, 에테르(예, 폴리에틸렌글리콜 400), 오일, 지방산, 지방산에스테르, 글리세리드 또는 계면활성제, 현탁제, 유화제 등을 들 수 있다.

본 발명에 따른 크로몬 유도체 및 이의 염은 항암제 투여 전후에 각종의 투여수단에 적합한 조제로서 단독으로 투여하거나, 하나 이상의 항암제와 배합하여 투여할 수 있다. 투여의 유형은 치료할 환자의 증상, 항암제의 물리적 형태 등에 따라 폭넓게 변할 수 있다. 본 발명의 크로몬 유도체 및 이의 염은 항암제와 함께 병용하여 약제 내성을 반전시키기 위하여 일반적으로 성인에 대해 0.1mg/kg 내지 100mg/kg 범위의 양이 경구적으로 또는 비경구적으로 사용될 수 있다.

이하에서는 본 발명을 실시예에 의거하여 상세히 설명한다. 단, 하기 실시 예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용을 한정하는 것은 아니다.

**실시예 1:** 4-옥소-4H-크로몬-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

1) 4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐 아민의 제조

브롬화 2-(4-니트로페닐)에탄 2.30g 및 6,7-디메톡시-1,2,3,4-테트라히드로 이소퀴놀린 염산 염 2.29g을 N,N'-디메틸포름아미드 150ml에 용해시킨 후 탄산칼슘 4.15g 및 요오드화 나트륨 1.80g을 첨가하고, 생성된 용액의 온도를 100℃로 유지하면서 12시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결되면 증류수 150ml를 가한 후 에틸 아세테이트 200ml로 3회 추출하고, 유기층을 포화염수로 세척한 다음 황산마그네슘으로 건조하였다. 반응 용액을 감압 여과하고 용매를 증발시킨 후, 수득한 생성물 2.8g에 에틸 아세테이트 30ml를 가하고 재결정하여 니트로화합물 2.40g을 얻었다. 수득한 니트로 화합물을 테트라히드로퓨란 150ml 및 메탄올 150ml에 용해시킨 후, Pd/C 0.24g을 가하고, 1기압의 수소 대기하에서 18시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결되면 용액을 셀라이트 패드에 감압 여과하고, 패드를 메탄올로 세척한 후, 용매를 감압 증류하여 목적 화합물 2.03g(수율: 92%)을 수득하였다.

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 6.97(d, 2H), 6.57(d, 2H), 6.53(s, 1H), 6.47(s, 1H), 3.77(s, 6H), 3.57(s, 2H), 3.50(s, 2H), 2.71(m, 8H)

2) 2-아미노- N-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐-4,5-디메톡시 벤즈아미드의 제조

4,5-디메톡시-2-니트로벤조산 1.14g을 톨루엔 20ml에 가한 후, 염화 티오닐 0.73ml를 첨가하고, 용액의 온도를 100℃로 유지하면서 2시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결되면 용매를 감압 증류하여 생성물(1.13g)을 얻은 다음, 이를 디클로로메탄 20ml에 용해시킨 후, 온도를 0℃로 낮추었다. 이 용액에, 단계 1에서 얻은 4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐 아민 1.56g 및 트리에틸아민 1.05ml를 디클로로메탄 20ml에 녹인 용액을 적가한 후 온도를 실온으로 올리고, 실온에서 8시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결되면 용액을 포화 염화암모늄 수용액 및 포화염수로 세척하고, 유기층을 황산마그네슘으로 건조하고, 감압 여과한 후, 용매를 감압 증류하였다. 수득된 생성물을 칼럼 크로마토그래피로 분리하여 니트로화합물 2.50g을 얻었다. 수득된 니트로화합물 2.50g을 에탄올 30ml 및 디클로로메탄 30ml에 녹인 후, Pd/C 0.25g을 첨가하고 1기압의 수소 대기하에서 12시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결되면 용액을 셀라이트 패드에 여과시키고 패드를 에탄올로 세척한 후 용매를 감압 증류하여 목적 화합물 2.24g(수율: 95%)을 수득하였다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  : 8.96(s, 1H), 7.58(d, 2H), 7.21(s, 1H), 7.03(d, 2H), 6.54(s, 1H), 6.46(s, 1H), 4.10(s, 2H), 3.81(s, 6H), 3.77(s, 6H), 3.77(s, 2H), 3.06(s, 6H).

3) 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

단계 2에서 수득된 2-아미노-N-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐-4,5-디메톡시-벤즈아미드 2.5g 및 크로몬-2-카르복실산 0.97g을 디클로로메탄 5ml에 용해한 후, 여기에 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보다이미드 염산염 0.1g, 4-(디메틸아미노)피리딘 0.005g을 가하고, 실온에서 12시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결되면 반응 용액을 증류수 50ml로 세척하고, 유기층을 황산마그네슘으로 건조한 후, 감압여과 및 감압증류하여 불순한 생성물을 얻은 다음, 이를 칼럼 크로마토그래피로 분리하여 목적 화합물 2.2g(수율: 66%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  : 12.80(s, 1H), 8.53(s, 1H), 8.23(d, 1H), 8.85(s, 1H), 7.73(m, 2H), 7.59(d, 2H), 7.47(t, 1H), 7.32(d, 2H), 7.23(s, 1H), 7.12(s, 1H), 6.62(s, 1H), 6.55(s, 1H), 3.98(d, 6H), 3.86(s, 6H), 3.68(s, 2H), 2.95(m, 2H), 2.83(m, 6H)

실시예 2: 6-메틸-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

실시예 1의 단계 2에서 수득한 2-아미노-N-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐-4,5-디메톡시-벤즈아미드 0.5g을 디클로로메탄 5ml에 용해한 후, 6-메틸크로몬-2-카르보닐 클로라이드 0.21g 및 트리 에틸아민 0.1ml을 가하고 실온에서 12시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결되면 반응용액을 증류수 50ml로 세척하고, 유기 층을 황산마그네슘으로 건조한 후, 감압여과 및 감압증류하여 불순한 생성물을 얻은 다음, 이를 칼럼 크로마토그래피로 분리하여 목적 화합물 0.4g(수율: 58%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  : 12.75(s, 1H), 9.16(s, 1H), 8.01(s, 1H), 7.80(s, 1H), 7.59(m, 4H), 7.31(d, 2H), 7.20(s, 1H), 7.11(s, 1H), 6.62(s, 1H), 6.55(s, 1H), 3.98(d, 6H), 3.85(s, 6H), 3.68(s, 2H), 2.96(m, 2H), 2.82(m, 6H)

실시예 3: 5-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 (2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

1) 5-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산의 제조

a) 1-(2-히드록시-6-메톡시-페닐)-에타논의 제조

아세톤 70ml에 2',6'-디히드록시-아세트페논 10.0g을 용해하고, 탄산칼륨 9.1g 및 이오도메탄 4.0ml를 가한 후, 온도를 55℃까지 올려 8시간 동안 교반하였다. 반응이 완결되면 감압하에 용매를 제거하고, 물 500ml로 희석하여 메틸렌클로라이드 250ml로 두번 추출하였다. 그 다음, 유기층을 포화염수로 세척하고 황산마그네슘으로 건조한 후, 감압여과 및 감압증류하여 목적 화합물 10.4g(수율: 95%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  : 13.25(s, 1H), 7.34(t, 1H), 6.57(d, 1H), 6.38(d, 1H), 3.87(s, 3H), 2.68(s, 3H)

b) 5-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산의 제조

에탄올 120ml에 나트륨 8.9g을 가하여 에톡시나트륨 용액을 만들고, 디에틸 옥살레이트 35ml에 단계 a)에서 수득한 1-(2-히드록시-6-메톡시-페닐)-에타논 10.3g을 용해시키고, 여기에 상기 에톡시나트륨 용액에 가한 다음, 온도를 100℃까지 올려 16시간 동안 교반하였다. 반응이 완결되면 반응용액의 온도를 상온까지 식히고, 감압하에 용매를 제거한 후, 물을 가한 다음 이어서 2N HCl 용액으로 산성화하여 에틸아세트이트로 추출해 내었다. 유기층을 포화염수로 세척하고, 황산 마그네슘으로 건조한 후 감압여과 및 감압증류하여 목적 화합물 13.2g(수율: 97%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO})$   $\delta$  : 7.72(t, 1H), 7.16(d, 1H), 7.01(d, 1H), 6.69(s, 1H), 3.85(s, 3H)



2) 5-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 (2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

실시예 1의 단계 2에서 수득한 2-아미노-N-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐-4,5-디메톡시-벤즈아미드 0.2g 및 상기 단계 2에서 5-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 0.14g을 실시예 1의 단계 3)과 같은 방법으로 반응시켜 목적 화합물 0.15g(수율: 52%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 12.76(s, 1H), 8.47(s, 1H), 7.80(s, 1H), 7.60(m, 3H), 7.30(d, 2H), 7.28(s, 1H), 7.09(d, 2H), 6.85(d, 1H), 6.61(s, 1H), 6.54(s, 1H), 3.97(d, 6H), 3.94(s, 3H), 3.84(s, 6H), 3.69(s, 2H), 2.96(m, 2H), 2.79(m, 6H)

실시예 4: 5-히드록시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 (2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

1) 5-히드록시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산의 제조

질소 대기하에서 5-메톡시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 1.0g을 메틸렌클로라이드 10ml에 희석시키고, 온도를 -78℃로 낮추어 보론트리브로마이드 4.6ml를 천천히 가하였다. 30분 동안 교반한 후 천천히 온도를 상온으로 올려 6시간 동안 교반하였다. 반응이 완결되면 물로 희석하고 메틸렌클로라이드로 추출하였다. 그 다음, 유기층을 황산마그네슘으로 건조한 후 감압여과 및 감압증류하여 목적 화합물 0.6g(수율: 64%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO) δ: 12.19(s, 1H), 7.70(t, 1H), 7.12(d, 1H), 6.90(s, 1H), 6.84(d, 1H)

2) 5-히드록시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 (2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

실시예 1의 단계 2에서 수득한 2-아미노-N-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐-4,5-디메톡시-벤즈아미드 0.23g 및 상기 단계 2에서 수득한 5-히드록시-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 0.14g을 실시예 1의 단계 3과 같은 방법으로 반응시켜 목적 화합물 0.18g(수율: 56%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 12.85(s, 1H), 12.22(s, 1H), 8.50(s, 1H), 7.86(s, 1H), 7.64(d, 1H), 7.58(d, 2H), 7.31(d, 2H), 7.15(t, 1H), 7.14(s, 1H), 6.87(d, 1H), 6.61(s, 1H), 6.55(s, 1H), 3.97(d, 6H), 3.85(s, 6H), 3.68(s, 2H), 2.95(m, 2H), 2.84(m, 6H)

실시예 5: 6-플루오로-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 (2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

실시예 1의 단계 2에서 수득한 2-아미노-N-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐-4,5-디메톡시-벤즈아미드 0.2g 및 6-플루오로크로몬-2-카르보닐 클로라이드 0.11g을 실시예 2와 같은 방법으로 반응시켜 목적 화합물 0.18g(수율: 64%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 12.84(s, 1H), 8.54(s, 1H), 7.86(dd, 1H), 7.76(s, 1H), 7.73(dd, 1H), 7.57(d, 2H), 7.48(dt, 1H), 7.32(d, 2H), 7.22(s, 1H), 7.11(s, 1H), 6.62(s, 1H), 6.55(s, 1H), 3.99(d, 6H), 3.85(s, 6H), 3.67(s, 2H), 2.93(m, 2H), 2.82(m, 6H)

실시예 6: 6-브로모-4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산 (2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드의 제조

실시예 1의 단계 2에서 수득한 2-아미노-N-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐-4,5-디메톡시-벤즈아미드 0.2g 및 6-브로모크로몬-2-카르복실산 0.18g을 실시예 1의 단계 3과 같은 방법으로 반응시켜 목적 화합물 0.17g(수율: 55%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$ : 12.85(s, 1H), 8.54(s, 1H), 8.36(s, 1H), 7.86(dd, 1H), 7.77(s, 1H), 7.58(m, 3H), 7.32(d, 2H), 7.24(s, 1H), 7.12(s, 1H), 6.62(s, 1H), 6.56(s, 1H), 3.99(d, 6H), 3.86(s, 6H), 3.70(s, 2H), 2.96(m, 2H), 2.87(m, 6H)

실시예 7: 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드 메탄설폰산 염

실시예 1에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드 1g을 메탄올 70ml에 넣고 교반하였다. 약 30분 후, 메탄올 5ml에 묽힌 메탄설폰산 0.10ml을 0℃에서 적가하였다. 10분 후에, 반응 용액을 상온으로 옮기고, 6시간 동안 교반하여 목적 화합물 0.98g(수율: 86%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$ : 8.59(s, 1H), 8.34(d, 1H), 8.01(t, 1H), 7.94-7.91(m, 3H), 7.76-7.70(m, 2H), 7.58(d, 2H), 7.28(s, 1H), 7.03(s, 1H), 6.98(s, 1H), 4.14(s, 3H), 4.11(s, 3H), 4.02(s, 6H), 3.79-3.67(m, 4H), 3.34-3.21(m, 6H), 2.87(s, 3H)

실시예 8: 경구 투여용 제형의 제조(1)

화학식 1의 크로몬 유도체로서, 실시예 1에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드를 활성 화합물로 하는 경구 투여용 제형을 제조하기 위해, 하기의 성분들을 혼합하여 단일 정제로 압착하였다.

성분 정제당 양

활성 화합물 100mg

옥수수 전분 80mg

락토오스 80mg

스테아르산마그네슘 5mg

이와 같은 방법으로, 또한 실시예 2 내지 7에서 수득된 크로몬 유도체를 경구투여용 제형중의 활성 화합물로서 사용할 수 있다. 이때, 실시예 7에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드 메탄설폰산 염을 사용하는 경우에는 활성 화합물의 양을 114mg 으로 사용한다.

실시예 9: 경구 투여용 제형의 제조(2)

화학식 1의 크로몬 유도체로서, 실시예 1에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드를 활성 화합물로 하는 경구 투여용 제형을 제조하기 위해, 하기의 성분들을 혼합하여 경질의 젤라틴 캡슐에 도입하였다.

성분 정제당 양

활성 화합물 100mg

옥수수 전분 40mg

락토오스 80mg

결정성셀룰로오스 80mg

스테아르산마그네슘 5mg

이와 같은 방법으로, 또한 실시예 2 내지 7에서 수득된 크로몬 유도체를 경구투여용 제형중의 활성 화합물로서 사용할 수 있다. 이때, 실시예 7에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드 메탄설폰산 염을 사용하는 경우에는 활성 화합물의 양을 114mg 으로 사용한다.

#### 실시예 10: 주사용 제형의 제조(1)

화학식 1의 크로몬 유도체로서, 실시예 1에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드를 활성 화합물로 하는 주사용 제형을 제조하기 위해, 하기의 성분들을 혼합하여 제형을 제조하였다.

#### 성분 정제당 양

활성 화합물의 염 20mg

5%-포도당용액 5ml

이와 같은 방법으로, 또한 실시예 2 내지 7에서 수득된 크로몬 유도체를 주사용 제형중의 활성 화합물로서 사용할 수 있다. 이때, 실시예 7에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드 메탄설폰산 염을 사용하는 경우에는 활성 화합물의 양을 23mg 으로 사용한다.

#### 실시예 11: 주사용 제형의 제조(2)

화학식 1의 크로몬 유도체로서, 실시예 1에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드를 활성 화합물로 하는 주사용 제형을 제조하기 위해, 하기의 성분들을 혼합하여 제형을 제조하였다.

#### 성분 정제당 양

활성 화합물 20mg

폴리에틸렌글리콜 400 2ml

멸균수 8ml

이와 같은 방법으로, 또한 실시예 2 내지 7에서 수득된 크로몬 유도체를 주사용 제형중의 활성 화합물로서 사용할 수 있다. 이때, 실시예 7에서 수득한 4-옥소-4H-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1H-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드 메탄설폰산 염을 사용하는 경우에는 활성 화합물의 양을 23mg 으로 사용한다.

#### 실험예 1: 다약제 내성의 저해 및 항암제의 활성 증가 시험

본 발명의 화합물의 효과를 알아보기 위해 내성 암세포에 대한 다약제 내성 저해 효과 시험을 실시하였다. 시험에 사용된 암세포는 MCF-7 및 MCF-7/Dx으로, MCF-7/Dx는 MCF-7 에 독소루비신을 계속적으로 첨가한 후 분리해 낸 약제 내성을 갖는 p-당단백질을 발현하는 암세포 주이며, 37℃, 5% 이산화탄소, 95% 공기 및 100% 습도의 조건하에서, 글루타민(glutamine), 중탄산나트륨, 겐타마이신 및 암포테리신(amphotericin)을 첨가한 RPM1640 용액에 5% 소 태아혈청을 보강한 배지에서 배양하고, 3 내지 4일에 한번씩 계대 유지하였다. 부착면으로부터 세포의 분리에는 0.25% 트립신(trypsin) 용액에 3mM 1,2-시클로헥산디아민테트라아세트산을 첨가한 용액을 사용하였다.

MCF-7 및 MCF-7/Dx 암세포를 각각 96웰(well) 평-바닥 마이크로플레이트에 웰당  $2 \times 10^3$  세포수가 되도록 분주하고, 상기한 배지에서 24시간 동안 배양하였다. 세포가 바닥 면에 부착된 후에 배양액을 제거하고,  $10^{-11}$  내지  $10^{-6}$  M의 농도

의 항암제 파클리탁셀 100 $\mu$ l을 단독으로 가하거나, 실시예의 화합물을 50nM의 농도로 병용하여 가하고 배양기에서 72시간 동안 배양하였다. 배양이 종료된 후 각 웰의 배양액을 제거하고, 남은 세포에 10% 트리클로로아세트산을 1시간 동안 처리하여 세포를 고정시켰다. 트리클로로아세트산을 제거하고, 물로 세척한 후 실온에서 건조시켰다. 여기에 1% 아세트산 용액에 0.4% SRB(sulforhodamine B)를 녹인 염색용액을 가하고 실온에서 30분간 방치하여 세포를 염색한 후, 1% 아세트산 용액으로 세척하여 세포와 결합하지 않은 여분의 SRB를 제거하였다. 이렇게 염색된 세포들에 pH가 10.3 내지 10.5인 10ml 트리스마 염(trisma base) 용액을 가하여 세포와 결합한 SRB를 용출시킨 후, 마이클로플레이트 리더(microplate reader)를 이용하여 520nm 파장에서 각 웰의 흡광도를 측정하였으며, 50%의 성장이 저해되는 파클리탁셀의 ED<sub>50</sub>를 계산한 후 그 결과를 표 1에 나타내었다. 이와 함께 내성 암세포인 MCF7/Dx에 대한 파클리탁셀의 항암 활성 증가는 실시예 화합물을 처리하지 않았을 때(C<sub>ED50</sub>)와 처리하였을 때(T<sub>ED50</sub>)를 비교하여 내성억제효과(C<sub>ED50</sub>/T<sub>ED50</sub>)로서 나타내었다.

[표 1]

	ED <sub>50</sub> of Paclitaxel(nM)		
	MCF7	MCF7/Dx	내성 억제 효과
본 발명의 화합물을 가하지 않음	11.5	294.6	1.0
실시예 1	13.7	3.9	75.5
실시예 2	8.6	4.1	71.9
실시예 3	8.5	4.0	73.7
실시예 4	6.5	5.4	54.6
실시예 5	11.9	5.1	57.8
실시예 6	9.1	8.1	36.4

상기 표 1에서 보는 바와 같이, 본 발명에 따른 실시예 1 내지 6의 화합물은 50nM 에서 내성암종인 MCF-7/Dx의 파클리탁셀에 대한 다약제 내성을 효율적으로 억제하는 것을 알 수 있다.

#### 실험예 2: 경구용 파클리탁셀의 경구흡수도 시험

본 발명에 따른 상기 실시예의 화합물과 파클리탁셀을 함께 경구 투여하는 군을 시험군으로 하고, 파클리탁셀 만을 경구 투여한 군을 대조군으로 하여 경구흡수율의 차이를 비교 평가하였다. 시험군에는 상기 실시예 1에서 수득한 화합물 12mg (조성: 실시예 1에서 수득한 화합물 12mg/ 5%-덱스트로스 4ml + 메실산 1.2 $\mu$ g)과 파클리탁셀 20mg/kg (조성: 6mg 파클리탁셀/ 크레모포어 EL 0.5ml + 에탄올 0.5ml)을 투여하였으며, 대조군에는 비히클(5%-덱스트로스 4ml + 메실산 1.2 $\mu$ g)과 파클리탁셀 20mg(조성: 6mg 파클리탁셀/ 크레모포어 EL 0.5ml + 에탄올 0.5ml)을 투여하였다.

스프라그-다우리게(Sprague-Dawley) 랫트(14-15주령, ㈜대한바이오텍으로부터 입수)를 검체당 각각 5 내지 8마리 사용하였다. 동일한 조건의 우리 속에서 7일 이상 랫트를 사육하면서 일정한 양의 통상적인 랫트용 고체 사료 및 물을 공급한 후, 랫트를 24시간 이상 절식(절식시 물은 자유롭게 마실 수 있게 하였다)시킨 다음 시험하였다. 랫트 체중 1kg당 파클리탁셀로서 20mg 투여되도록 시험 제제 및 대조 제제를 경구투여용 기구를 이용하여 물과 함께 밀어 넣어 랫트에 경구 투여하였다. 투여 전 및 투여 후 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 8시간 및 24시간이 경과된 때에 각각 랫트의 심장로부터 직접 채혈하였다.

혈액을 12000rpm, 4℃에서 5분 동안 원심분리하여 혈장을 얻고, 혈장 200 $\mu$ l에 아세토니트릴 400 $\mu$ l을 가하고, 3분간 볼텍스(Vortex) 혼합한 후, 다시 12000rpm, 4℃에서 5분 동안 원심 분리한 다음 상등액 50 $\mu$ l를 취하여 미세마이크로 고압액체크로마토그래피(HPLC) 분석하였으며, 이 분석에 사용된 HPLC 조건은 다음과 같다:

세미(Semi)-HPLC 시스템: 시세이도(Shiseido) SI-1 모델,

분석칼럼: 캡셀 팩(Capcell Pak) C18 UG120 (5 $\mu$ m, 1.5250mm),

전칼럼: 캡셀 팩 C18 MF Ph-1 (4.610mm),

농축칼럼: 캡셀 팩 C18 UG120 (5 $\mu$ m, 1.535mm),

전칼럼 이동상: 20% 아세토니트릴,

분석칼럼 이동상: 55% 아세토니트릴,

주입량: 5 $\mu$ l,

분석칼럼유속: 5 $\mu$ l/분,

검출: 227nm.

랫트의 혈장 파클리탁셀 농도의 시간에 따른 변화를 하기 표 2에 나타내었다.

[표 2]

	AUC (ng.시간/ml) <sup>*1</sup>	Tmax (hr) <sup>*2</sup>	Cmax(ng/ml) <sup>*3</sup>
대조군	440 $\pm$ 205	2.0	78 $\pm$ 31
실시예 1	3,040 $\pm$ 1,131	1.0	1,187 $\pm$ 420
실시예 3	3,645 $\pm$ 1,230	1.0	1,110 $\pm$ 518
실시예 6	3,480 $\pm$ 1,210	1.0	1,020 $\pm$ 530
* 1 : 투여후 24시간 까지의 약물의 혈장농도 곡선하의 면적			
* 2 : 최고 혈장농도에 이르는 시간			
* 3 : 최고 혈장농도			

상기 표 2로부터, 본 발명에 따른 화합물이 파클리탁셀과 같이 경구흡수율이 저조한 약물과 함께 투여되는 경우 약물을 단독으로 투여했을 때에 비해 경구흡수율을 효율적으로 증가시키는 것을 알 수 있다.

#### 발명의 효과

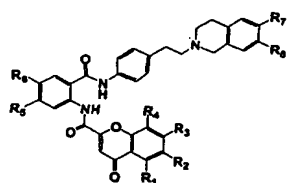
본 발명의 화학식 1의 신규한 크로몬 유도체는 암세포의 항암제에 대한 다약제 내성을 효과적으로 저해할 수 있는 화합물로서 항암제에 다약제 내성을 가진 환자를 치료하는데 사용될 뿐만 아니라, 파클리탁셀과 같이 경구투여시 생체흡수율이 낮은 약물과 함께 사용하는 경우 약물의 생체흡수율을 향상시킴으로써 약물 투여의 편리성 및 안전성을 높여 자가치료가 또한 가능해 진다.

#### (57) 청구의 범위

#### 청구항 1.

하기 화학식 1의 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

#### 화학식 1



상기 식에서,  $R_1$  내지  $R_8$ 은 각각 독립적으로 수소, 히드록시, 할로젠, 니트로,  $C_{1-5}$  알킬 또는  $C_{1-5}$  알콕시이다.

## 청구항 2.

제 1항에 있어서, 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

4-옥소-4*H*-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1*H*-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드;

6-메틸-4-옥소-4*H*-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1*H*-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드;

5-메톡시-4-옥소-4*H*-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1*H*-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드;

5-히드록시-4-옥소-4*H*-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1*H*-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드;

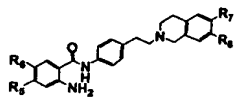
6-플루오로-4-옥소-4*H*-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1*H*-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드; 및

6-브로모-4-옥소-4*H*-크로멘-2-카르복실산-(2-4-[2-(6,7-디메톡시-3,4-디히드로-1*H*-이소퀴놀린-2-일)-에틸]-페닐카바모일-4,5-디메톡시-페닐)-아미드.

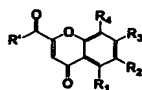
## 청구항 3.

하기 화학식 2의 아미노페닐 화합물과 하기 화학식 3의 산 또는 아실할라이드 화합물을 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드, *N,N*-디시클로헥실디이미드, *N,N*-디이소프로필카르보디이미드, 및 1-시클로헥실-3-(2-몰포리노에틸)카르보디이미드 메틸-*p*-톨루엔설포네이트로 이루어진 군으로부터 선택된 촉합제 또는 트리에틸아민, 디프로필에틸아민 및 피리딘으로 이루어진 군으로부터 선택된 염기의 존재하에서 반응시키는 단계를 포함하는, 제 1항에 따른 화학식 1의 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 제조방법:

### 화학식 2



### 화학식 3

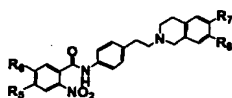


상기 식에서,  $R_1$  내지  $R_8$ 은 각각 독립적으로 수소, 히드록시, 할로젠, 니트로,  $C_{1-5}$  알킬 또는  $C_{1-5}$  알콕시이며,  $R'$ 는 OH, Cl 또는 Br 이다.

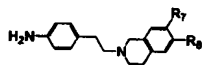
#### 청구항 4.

제 3항에 있어서, 화학식 2의 아미노페닐 화합물이, 하기 화학식 8의 니트로 화합물과 화학식 9의 아민 화합물을 피리딘, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민 및 디메틸포름아미드로 이루어진 군으로부터 선택된 염기 존재하에서 반응시켜 하기 화학식 7의 니트로 화합물을 생성한 후, 이를 팔라듐, 플래티늄, 아연 및 철로 이루어진 군으로부터 선택된 금속 촉매하에서 수소화반응시켜 하기 화학식 5의 아민 화합물을 생성한 다음, 하기 화학식 6의 카르복실산 화합물을 염화 티오닐과 반응시킨 후 피리딘, 트리에틸아민 및 디이소프로필에틸아민으로 이루어진 군으로부터 선택된 염기의 존재하에서 화학식 5의 아민 화합물과 반응시켜 하기 화학식 4의 니트로페닐 화합물을 수득한 후, 이를 다시 팔라듐, 플래티늄, 아연 및 철로 이루어진 군으로부터 선택된 금속 촉매하에서 수소화반응을 수행함으로써 제조됨을 특징으로 하는 방법:

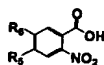
화학식 4



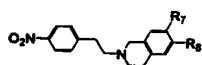
화학식 5



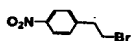
화학식 6



화학식 7



화학식 8



화학식 9



#### 청구항 5.

제1항에 따른 화학식 1의 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 암세포의 다약제 내성 저해용 조성물.

#### 청구항 6.

제1항에 따른 화학식 1의 크로몬 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 및 파클리탁셀을 포함하는, 파클리탁셀의 경구흡수율 증가용 조성물.

#### 청구항 7.

삭제